

И.В. ШИПИЦЫНА, Е.В. ОСИПОВА



## ВИДОВОЙ СОСТАВ АССОЦИАЦИЙ И ВЗАИМООТНОШЕНИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОСТЕОМИЕЛИТИЧЕСКОГО ОЧАГА

Национальный медицинский исследовательский центр травматологии и ортопедии  
имени академика Г.А. Илизарова, г. Курган,  
Российская Федерация

**Цель.** Определить видовой состав ассоциаций микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага, и изучить характер взаимоотношений ассоциантов на основе данных биопленкообразующей способности.

**Материалы и методы.** Исследовано 184 клинических изолята, выделенных из 88 ассоциаций при первичных посевах из ран и свищей 88 пациентов с хроническим остеомиелитом длинных трубчатых костей. Для получения ассоциативной биопленки *in vitro* смешивали суточные культуры штаммов бактерий в соотношении 1:1. Выращивали биопленки на поверхности полистироловых планшетов с последующим определением уровня биопленкообразования через 24 ч и 48 ч. Для оценки синергических, нейтральных и антагонистических взаимоотношений бактерий в биопленках рассчитывали показатель КВ (коэффициент взаимоотношений).

**Результаты.** Лидирующие позиции по частоте выделения из остеомиелитического очага занимают ассоциации стафилококка с грамотрицательными бактериями. На первые сутки эксперимента 38,6% ассоциаций обладали средней биопленкообразующей способностью, причем 36,4% – ассоциации грамположительных + грамотрицательных бактерий; низкой – 42,1%, высокой – 19,3%. Через 48 ч процент среднеадгезивных штаммов остался на том же уровне – 38,6%, низкоадгезивных – снизился до 36,4%, высокоадгезивных – увеличился до 25%. Большинство ассоциаций бактерий проявляли антагонистические взаимоотношения. Синергизм наблюдали в 2 случаях, при формировании биопленки ассоциацией *S. aureus*+*P. aeruginosa*, при этом уровень пленкообразования как на первые, так и на вторые сутки исследования был высоким. В нескольких ассоциациях наблюдали переход с антагонистических отношений на синергические либо нейтральные.

**Заключение.** Установлено, что среди выделенных ассоциаций наибольший удельный вес приходится на ассоциации грамположительных + грамотрицательных бактерий, при этом одним из компонентов чаще всего является *S. aureus*. У данных ассоциаций отмечена высокая и средняя активность формирования биопленок на поверхности полистироловых планшетов. Взаимоотношения микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага в составе ассоциаций, как правило, антагонистические.

**Ключевые слова:** остеомиелит, ассоциации бактерий, биопленки, антагонизм, синергизм, коэффициент взаимоотношений

**Objective.** To determine the species composition of the associations isolated from osteomyelitis foci and to study the character of associate relationships based on the biofilm-forming ability data.

**Methods.** The microbiological study included clinical isolates (n=184) obtained from associations (n=88) during primary inoculations from wounds and fistulas of patients (n= 88) with chronic osteomyelitis of long tubular bones. In order to obtain an associative biofilm *in vitro*, the cultures of competing bacterial strains were daily mixed in 1:1 ratio. The biofilms were grown on the surface of polystyrene plates with subsequent determination of the level of biofilm formation in 24 and 48 hours. The coefficient of relationship (CR) was calculated to evaluate the synergistic, neutral and antagonistic relationships between bacteria in the biofilms.

**Results.** The associations of staphylococcus with gram-negative bacteria were most frequently recovered from osteomyelitis foci. On the 1st day of the experiment, 38,6 % of associations had a moderate biofilm-forming ability, and besides, associations of gram-positive + gram-negative bacteria were observed in 36,4%; 42,1% of associations had a low biofilm-forming ability; 19,3% – had a high biofilm-forming ability. After 48 hours the percentage of mild adhesive strains remained at the same level – 38,6%, as for the low adhesive ones it decreased to 36,4%, high adhesive – increased up to 25%. Most bacterial associations manifested antagonistic relationships. Synergism in biofilm-forming by the association of *S. aureus* + *P. aeruginosa* was observed in 2 cases, while the level of film-forming was high as on the first and the second day of the study. In several associations it transformed from antagonistic to synergistic or neutral relationships.

**Conclusion.** It has been established that among the identified associations, the largest specific weight falls on the associations of gram-positive + gram-negative bacteria, while *S. aureus* is one of the most common components. These associations were noted to have high and mild activity of biofilm-forming on the surface of polystyrene plates. Relationships between the microorganisms isolated from osteomyelitis foci in associations, as a rule, are antagonistic.

**Keywords:** osteomyelitis, associations of bacteria, biofilms, antagonism, synergism, coefficient of relationship

**Научная новизна статьи**

Впервые изучен характер взаимоотношений микроорганизмов в составе ассоциаций, выделенных из остеомиелитического очага, на основе данных биопленкообразующей способности. Установлено, что в микробиоценозе остеомиелитического очага наибольший удельный вес приходится на ассоциации *S. aureus* с грамотрицательными бактериями. У данных ассоциаций отмечена высокая и средняя активность формирования биопленок на поверхности полистироловых планшетов. Взаимоотношения микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага в составе ассоциаций, как правило, антагонистические.

**What this paper adds**

For the first time, the nature of the relationship between microorganisms in the composition of associations isolated from the osteomyelitis focus has been studied on the basis of biofilm-forming ability data. It has been established that in microbiocenosis of the osteomyelitis foci, the greatest specific weight falls on the associations of *S. aureus* with gram-negative bacteria. These associations have a high and moderate activity of biofilm formation on the surface of polystyrene plates. The relationships between microorganisms isolated from the osteomyelitis focus as part of associations are usually antagonistic.

**Введение**

Одной из причин длительного воспаления в остеомиелитическом очаге может быть существование бактерий в составе моно- или полиассоциативной биопленки. В последние годы в этиологии хронического остеомиелита наблюдается увеличение удельного веса популяций микроорганизмов, образующих ассоциации с различными типами взаимоотношений — синергическими или антагонистическими, оказывающими влияние на биомассу биопленки, ее функциональность и толерантность [1, 2, 3]. Встречаются как двухкомпонентные, так и многокомпонентные ассоциации бактерий [2, 3, 4]. Лидирующие позиции занимают ассоциации золотистого стафилококка с грамположительными или грамотрицательными бактериями [4, 5, 6]. В биопленках свойства и взаимодействие микроорганизмов могут оказывать влияние на течение инфекционного процесса, что связано с усилением или ослаблением болезнетворных свойств бактерий [1, 5, 6]. Кроме того, в составе биопленок взаимодействующие микроорганизмы могут приобретать резистентность к антибиотикам [5, 6, 7]. Имеются данные об изменении свойств патогенов в составе формируемой ими биопленки [8, 9].

Анализ видового состава ассоциаций микроорганизмов и изучение характера их взаимоотношений позволит выявить закономерности, приводящие к изменению типичных или проявлению новых биологических свойств бактерий при формировании биопленки [3, 8].

**Цель.** Определить видовой состав ассоциаций микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага, и изучить характер взаимоотношений ассоциантов на основе данных биопленкообразующей способности.

**Материал и методы**

В микробиологическое исследование включены 184 клинических изолята, выделенных из 88 ассоциаций при первичных посевах из ран и свищей 88 пациентов, находившихся на лечении в гнойном отделении Российский научного центра «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Минздрава России.

Видовая идентификация микроорганизмов проводилась с использованием бактериологического анализатора Walkaway — 40 plus («Siemens», США).

Для получения ассоциативной биопленки *in vitro* смешивали суточные культуры штаммов бактерий в соотношении 1:1. Далее бульонные культуры тестируемых ассоциаций инокулировали в лунки планшеты по 100 мкл в 4 повторах. Для контроля на каждой планшете в 8 лунок вносили стерильный мясопептонный бульон. После инкубации в течение 24 и 48 часов при 37 °С содержимое лунок (бульон, содержащий планктонные бактериальные клетки) аккуратно удаляли пипеткой. Лунки 3 раза промывали фосфатным буфером. Для окрашивания пленок в лунки вносили по 180 мкл раствора генцианвиолета на 45 минут при комнатной температуре. После трехкратного промывания фосфатным буфером в лунки для экстракции краски из пленки вносили по 200 мкл 96% этанола. Уровень биопленкообразования определяли с помощью фотометра ELx808 (BioTek, США)=630 нм. Для интерпретации результатов использовали разработанные внутрилабораторные критерии [5].

Для оценки синергических и антагонистических взаимоотношений бактерий в биопленках рассчитывали показатель КВ (коэффициент

взаимоотношений), представляющий отношение средней оптической плотности смешанной биопленки к средней оптической плотности наиболее активного ассоцианта биопленки с учетом ошибок среднего арифметического значения:

$$KB = \frac{OD_{630}^{mix} + m}{OD_{630}^{Акомп} - m},$$

где  $OD_{630}^{mix}$  — оптическая плотность ассоциации бактерий;  $OD_{630}^{Акомп}$  — оптическая плотность наиболее активного компонента ассоциации,  $m$  — ошибка среднего.

При KB1 отношения считали антагонистическими, KB1- синергическими, KB=1 — нейтральными.

### Статистика

Статистическую обработку результатов проводили с помощью программного обеспечения анализа данных AtteStat, версия 13.0. Для каждого изолята и ассоциации рассчитывали среднее арифметическое значение оптической плотности и его стандартную ошибку ( $M \pm m$ ), которые использовались при определении коэффициента взаимоотношений.

### Результаты

При анализе бактериологических посевов в составе ассоциаций выделено 184 штамма

микроорганизмов, принадлежащих к 6 семействам бактерий: Staphylococcus sp., Enterobacteriaceae, Pseudomonadaceae, Moraxellaceae, Enterococcaceae, Streptococcaceae (рис. 1).

Среди грамположительных микроорганизмов 58% изолятов приходится на долю *S. aureus*. Среди грамотрицательных микроорганизмов наибольший удельный вес (41%) отмечен для штаммов *P. aeruginosa*.

В микробиоценозе остеомиелитического очага у 82 пациентов обнаружено 88 ассоциаций бактерий, из которых 90,9% — двухкомпонентные, 9,1% — трехкомпонентные (таблица 1).

Согласно проведенному исследованию частота встречаемости ассоциаций, представленных грамположительными и грамотрицательными бактериями, составила 62,5%; только грамположительными — 27,3%; грамотрицательными — 9,1%. Среди выделенных ассоциаций 8,0% были представлены бактериями одного вида, но с разной чувствительностью к антибактериальным препаратам, 22,7% — бактериями одного рода. Чаще всего в составе полимикробных культур встречался стафилококк — 87,5% ассоциаций. Причем удельный вес ассоциаций, в которых одним из компонентов был *S. aureus*, составил 64,8%.

Лидирующие позиции по частоте выделения из остеомиелитического очага занимают ассоциации стафилококка с грамотрицательными бактериями: *S. aureus* + *P. aeruginosa* ( $n=12$ ); *S. aureus* + *E. cloacae* ( $n=6$ ), *S. aureus* + *K. pneumoniae* ( $n=5$ ), *S. epidermidis* + *E. cloacae* ( $n=5$ ).

Рис 1. Этиологическая структура остеомиелитического очага

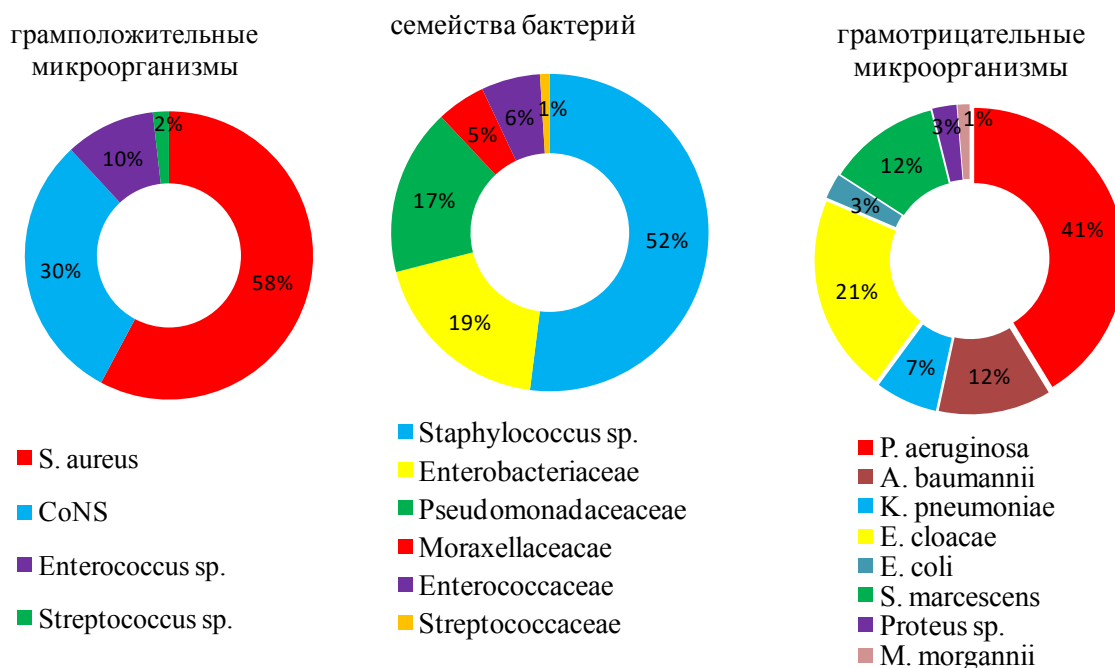


Таблица 1  
Количество ассоциаций, выделенных из ран пациентов с хроническим остеомиелитом

Микроорганизм	Количество ассоциаций, n
1 <i>S. aureus</i> + <i>S. aureus</i>	4
2 <i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i>	4
3 <i>S. aureus</i> + <i>S. hyicus</i>	2
4 <i>S. aureus</i> + <i>E. faecium</i>	1
5 <i>S. aureus</i> + <i>E. faecalis</i>	2
6 <i>S. aureus</i> + <i>S. hominis</i>	2
7 <i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i> + <i>S. hominis</i>	1
8 <i>S. aureus</i> + <i>S. capitis</i> + <i>S. auricularis</i>	1
9 <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i>	14
10 <i>S. aureus</i> + <i>A. baumannii</i>	4
11 <i>S. aureus</i> + <i>E. cloacae</i>	6
12 <i>S. aureus</i> + <i>K. pneumoniae</i>	5
13 <i>S. aureus</i> + <i>E. coli</i>	2
14 <i>S. aureus</i> + <i>S. marcescens</i>	5
15 <i>S. aureus</i> + <i>E. faecalis</i> + <i>P. vulgaris</i>	1
16 <i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus</i> sp. + <i>S. hyicus</i>	1
17 <i>S. aureus</i> + <i>S. aureus</i> + <i>S. marcescens</i>	1
18 <i>S. aureus</i> + <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i>	1
19 <i>S. epidermidis</i> + <i>E. faecalis</i>	2
20 <i>S. epidermidis</i> + <i>P. aeruginosa</i>	2
21 <i>S. epidermidis</i> + <i>E. cloacae</i>	5
22 <i>S. epidermidis</i> + <i>E. cloacae</i> + <i>P. aeruginosa</i>	1
23 <i>S. epidermidis</i> + <i>P. mirabilis</i>	1
24 <i>S. epidermidis</i> + <i>A. baumannii</i>	2
25 <i>S. haemolyticus</i> + <i>A. baumannii</i>	1
26 <i>S. haemolyticus</i> + <i>E. cloacae</i>	1
27 <i>S. sciuri</i> + <i>P. aeruginosa</i>	1
28 <i>S. hyicus</i> + <i>E. faecalis</i>	1
29 <i>S. hominis</i> + <i>S. haemolyticus</i>	1
30 <i>S. warneri</i> + <i>S. marcescens</i>	1
31 <i>S. warneri</i> + <i>S. marcescens</i> + <i>P. aeruginosa</i>	1
32 <i>E. faecium</i> + <i>E. faecalis</i>	1
33 <i>E. faecalis</i> + <i>S. mitis</i>	1
34 <i>E. faecalis</i> + <i>A. baumannii</i>	1
35 <i>S. marcescens</i> + <i>M. morgani</i>	1
36 <i>A. baumannii</i> + <i>P. aeruginosa</i>	1
37 <i>E. cloacae</i> + <i>P. aeruginosa</i>	3
38 <i>P. aeruginosa</i> + <i>P. aeruginosa</i>	3

На первые сутки эксперимента при формировании биопленки для 84% ассоциаций было характерно антагонистическое взаимодействие микроорганизмов, при этом у 79,5% из них характер взаимоотношений не изменился через 48 часов (рис. 2). Синергический характер взаимоотношений на первые и вторые сутки был выявлен у 2,3% ассоциаций. Синергизм на первые сутки и антагонизм на вторые был выявлен у 9,1% исследуемых ассоциаций. Через 24 ч эксперимента 2,3% ассоциаций проявляли антагонистические взаимоотношения, а через 48 ч – синергические. Нейтральные взаимоотношения на первые сутки были выявлены у 3% ассоциаций, через 48 ч – у 2%.

На первые сутки эксперимента 38,6% ассоциаций обладали средней биопленкообразующей способностью, причем 36,4% – ассоциации грамположительных + грамотрицательных бактерий; низкой – 42,1%, высокой – 19,3% (ассоциаций грамположительных + грамотрицательных бактерий – 17,1%) (таблица 2). Через 48 ч процент среднеадгезивных штаммов остался на том же уровне – 38,6%, низкоадгезивных – снизился до 36,4%, высокоадгезивных – увеличился до 25%.

В ассоциациях *S. aureus* + *S. aureus* (n=1); *S. aureus* + *P. aeruginosa* (n=1), *S. aureus* + *K. pneumoniae* (n=1), *S. aureus* + *A. baumannii* (n=1), *S. aureus* + *S. marcescens* (n=1), *S. sciuri* + *P. aeruginosa* (n=1), *P. aeruginosa* + *P. aeruginosa* (n=1) через 24 ч эксперимента уровень биопленкообразования был средним, либо низким, на вторые сутки наблюдали высокую активность биопленкообразования.

Ассоциации бактерий: *S. aureus* + *S. hominis* (n=1), *S. aureus* + *S. aureus* + *P. aeruginosa* (n=1), *S. epidermidis* + *E. faecalis* (n=1), *S. haemolyticus* + *E. cloacae* (n=1), *E. faecalis* + *A. baumannii* (n=1) на первые сутки эксперимента характеризовались высоким сродством к пленкообразованию. На вторые сутки адгезивная активность бактерий снижалась до средней или слабой.

### Обсуждение

Несмотря на то, что *S. aureus* в этиологии остеомиелита является приоритетным патогеном, в последние годы все чаще встречаются данные о смене микробного пейзажа и возросшей роли грамотрицательной микрофлоры [1, 2, 6]. Так, например, бактерии *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii* представляют собой серьезную угрозу в лечении пациентов с остеомиелитом ввиду тяжести вызываемых осложнений и множественной резистентности к антибактериальным препаратам [10, 11, 12].



Рис. 2. Характер взаимоотношений бактерий в составе биопленки через 24 и 48 часов

Таблица 2

**Распределение ассоциаций микроорганизмов по способности формировать биопленки на поверхности лунок полистироловых планшетов**

Ассоциация	Способность штаммов формировать биопленку (24 ч / 48 ч)		
	слабая	средняя	высокая
<i>S. aureus</i> + <i>S. aureus</i> (n=4)	4/3	-/-	-/1
<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i> (n=4)	4/4	-/-	-/-
<i>S. aureus</i> + <i>S. hyicus</i> (n=2)	2/2	-/-	-/-
<i>S. aureus</i> + <i>E. faecium</i> (n=1)	1/1	-/-	-/-
<i>S. aureus</i> + <i>E. faecalis</i> (n=2)	2/2	-/-	-/-
<i>S. aureus</i> + <i>S. hominis</i> (n=2)	1/2	-/-	1/-
<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i> + <i>S. hominis</i> (n=1)	1/1	-/-	-/-
<i>S. aureus</i> + <i>S. capitis</i> + <i>S. auricularis</i> (n=1)	1/1	-/-	-/-
<i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=14)	3/2	9/6	2/6
<i>S. aureus</i> + <i>A. baumannii</i> (n=4)	-/-	4/3	-/1
<i>S. aureus</i> + <i>E. cloacae</i> (n=6)	4/3	1/2	1/1
<i>S. aureus</i> + <i>K. pneumonia</i> (n=5)	2/1	1/1	2/3
<i>S. aureus</i> + <i>E. coli</i> (n=2)	-/-	1/1	1/1
<i>S. aureus</i> + <i>S. marcescens</i> (n=5)	4/2	-/1	1/2
<i>S. aureus</i> + <i>E. faecalis</i> + <i>P. vulgaris</i> (n=1)	-/-	-/-	1/1
<i>S. aureus</i> + <i>S. aureus</i> + <i>S. marcescens</i> (n=1)	1/1	-/-	-/-
<i>S. aureus</i> + <i>S. aureus</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=1)	-/-	-/1	1/-
<i>S. aureus</i> + <i>Streptococcus</i> sp. + <i>S. hyicus</i>	-/-	1/1	-/-
<i>S. epidermidis</i> + <i>E. faecalis</i> (n=2)	1/2	-/-	1/-
<i>S. epidermidis</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=2)	1/-	1/2	-/-
<i>S. epidermidis</i> + <i>E. cloacae</i> (n=5)	-/-	5/5	-/-
<i>S. epidermidis</i> + <i>E. cloacae</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=1)	-/-	1/1	-/-
<i>S. epidermidis</i> + <i>P. mirabilis</i> (n=1)	-/-	-/-	1/1
<i>S. epidermidis</i> + <i>A. baumannii</i> (n=2)	-/-	1/1	1/1
<i>S. haemolyticus</i> + <i>A. baumannii</i> (n=1)	-/-	1/1	-/-
<i>S. haemolyticus</i> + <i>E. cloacae</i> (n=1)	-/-	-/1	1/-
<i>S. sciuri</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=1)	-/-	1/-	-/1
<i>S. hyicus</i> + <i>E. faecalis</i> (n=1)	1/1	-/-	-/-
<i>S. hominis</i> + <i>S. haemolyticus</i> (n=1)	1/1	-/-	-/-
<i>S. warneri</i> + <i>S. marcescens</i> (n=1)	1/-	-/1	-/-
<i>S. warneri</i> + <i>S. marcescens</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=1)	-/-	1/1	-/-
<i>E. faecium</i> + <i>E. faecalis</i> (n=1)	1/1	-/-	-/-
<i>E. faecalis</i> + <i>S. mitis</i> (n=1)	1/1	-/-	-/-
<i>E. faecalis</i> + <i>A. baumannii</i> (n=1)	-/-	-/1	1/-
<i>S. marcescens</i> + <i>M. morgani</i> (n=1)	-/-	1/1	-/-
<i>A. baumannii</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=1)	-/-	1/1	-/-
<i>E. cloacae</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=3)	-/-	2/2	1/1
<i>P. aeruginosa</i> + <i>P. aeruginosa</i> (n=3)	-/1	2/-	1/2
Итого	37/31	34/35	17/22

В то же время наблюдается тенденция к повышению удельного веса ассоциаций возбудителей, вызывающих инфекционный процесс при остеомиелите [1, 3]. Так, при остеомиелите длинных трубчатых костей отмечается высокий процент выделения микс-культур: *S. aureus* + *S. epidermidis*; *S. epidermidis* + *S. pyogenes*, *S. aureus* + *P. aeruginosa* [3, 5].

Есть данные, согласно которым развитие остеомиелита может быть связано с микрофлорой, существующей в биопленочном матриксе [1, 6, 13]. Благодаря существованию в составе биопленки бактерии способны уклоняться от иммунных атак макроорганизма, воздействия антибиотиков, дезинфицирующих средств и других факторов [9, 14, 15].

Согласно полученным нами данным, большинство ассоциаций бактерий, выделенных из остеомиелитического очага, проявляли антагонистические взаимоотношения, в результате чего рост биопленки либо снижался, либо усиливался за счет активной адгезии одного из ассоциантов. Синергизм наблюдали только в 2 случаях, при формировании биопленки ассоциацией *S. aureus* + *P. aeruginosa*, при этом уровень пленкообразования, как на первые, так и на вторые сутки исследования был высоким. В нескольких ассоциациях наблюдали переход с антагонистических отношений на синергические, либо нейтральные. Так, например, в ассоциации *P. aeruginosa* + *P. aeruginosa* (штаммы с различной чувствительностью к антибактериальным препаратам) на первые сутки эксперимента наблюдали средний уровень биопленкообразования, на вторые — высокий.

### Заключение

Установлено, что среди выделенных ассоциаций наибольший удельный вес приходится на ассоциации грамположительных + грамотрицательных бактерий, при этом одним из компонентов чаще всего является *S. aureus*. У данных ассоциаций отмечена высокая и средняя активность формирования биопленок на поверхности полистироловых планшетов. Взаимоотношения микроорганизмов, выделенных из остеомиелитического очага в составе ассоциаций, как правило, антагонистические.

### Финансирование

Работа выполнялась в соответствии с планом научных исследований Российского научного центра «Восстановительная травматология и ортопедия» им. акад. Г.А. Илизарова Минздрава России. Финансовой поддержки со

стороны компаний-производителей лекарственных препаратов авторы не получали.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют, что конфликт интересов отсутствует.

### Этические аспекты.

#### Одобрение комитета по этике

Исследование одобрено этическим комитетом Национального медицинского исследовательского центра травматологии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова Министерства здравоохранения Российской Федерации (протокол 2 (57) от 17.05.2018).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Сакович НВ, Андреев АА, Микулич ЕВ, Остроушко АП, Звягин ВГ. Современные аспекты этиологии, диагностики и лечения остеомиелита. *Вестн Эксперим и Клини Хирургии*. 2018;11(1):70-79. doi: <https://doi.org/10.18499/2070-478X-2018-11-1-70-79>
2. Леонова СН, Рехов АВ, Камяка АЛ. Бактериологическое исследование раневого отделяемого у пациентов с локальной и распространенной формой хронического остеомиелита. *Бюл ВСНЦ СО РАМН*. 2016;1(4):91-94. <https://doi.org/10.12737/22975>
3. Дахер ЗР. Анализ ассоциаций микроорганизмов при остеомиелите трубчатых костей. *Интегративные Тенденции в Медицине и Образовании*. 2016;(4):30-31. [https://www.elibrary.ru/title\\_about.asp?id=53604](https://www.elibrary.ru/title_about.asp?id=53604)
4. Петухов ВИ, Булавкин ВП, Окулич ВК, Плотиных ФВ. Рациональное использование антибиотиков в лечении посттравматического остеомиелита с учетом динамики изменения резистентности. *Новости Хирургии*. 2012;20(1):71-79. [http://www.surgery.by/pdf/full\\_text/2012\\_1\\_13\\_ft.pdf](http://www.surgery.by/pdf/full_text/2012_1_13_ft.pdf)
5. Шипицына ИВ, Осипова ЕВ, Овчинников ЕН, Леончук ДС. Зависимость биопленкообразующей способности от антибиотикочувствительности клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у пациентов с хроническим остеомиелитом. *Клиническая Лабораторная Диагностика*. 2020;65(1):37-41. <https://www.medlit.ru/journalsview/lab/view/journal/2020/issue-1/>
6. Терехова РП, Митиш ВА, Пасхалова ЮС, Складан ГЕ, Прудникова СА, Блатун ЛА. Возбудители остеомиелита длинных костей и их резистентность. *Раны и Раневые Инфекции*. 2016;3(2):24-30. <https://doi.org/10.17650/2408-9613-2016-3-2-24-30>
7. Гординская НА, Сабирова ЕВ, Абрамова НВ, Дударева ЕВ, Митрофанов ВН. Резистентность основных возбудителей инфекции в отделении гнойной ортопедии. *Вопр Травматологии и Ортопедии*. 2012;(1):14-17. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18231216>
8. Фадеев СБ. Динамика видового состава микрофлоры очагов хирургической инфекции мягких тканей в течение заболевания. *Бюл Оренбург Науч Центра Уро РАН*. 2013;(3):4. <https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-vidovogo-sostava-mikroflory-ochagov-hirurgicheskoy-infektsii-myagkih-tkaney-v-techenie-zabolevaniya>



9. Шлепотина НМ, Плоткин ЛЛ, Белов ВВ. Микробиологическое и клиническое значение биопленочных инфекций (обзор литературы). *Урал Мед Журн.* 2014;(4):106-12. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22002684>
10. Rybtke M, Hultqvist LD, Givskov M, Tolker-Nielsen T. Pseudomonas aeruginosa Biofilm Infections: Community Structure, Antimicrobial Tolerance and Immune Response. *J Mol Biol.* 2015 Nov 20;427(23):3628-45. doi: 10.1016/j.jmb.2015.08.016
11. van Vugt TA, Geurts J, Arts JJ. Clinical Application of Antimicrobial Bone Graft Substitute in Osteomyelitis Treatment: A Systematic Review of Different Bone Graft Substitutes Available in Clinical Treatment of Osteomyelitis. *Biomed Res Int.* 2016;2016:6984656. doi: 10.1155/2016/6984656
12. Чеботарь ИВ, Лазарева АВ, Масалов ЯК, Михайлович ВМ, Маянский НА. Acinetobacter: микробиологические, патогенетические и резистентные свойства. *Вестн РАМН.* 2014;69(9-10):39-50. doi: 10.15690/vramn.v69i9-10.1130
13. Миронов СП, Цискарашвили АВ, Горбатюк ДС. Хронический посттравматический остеомиелит как проблема современной травматологии и ортопедии (обзор литературы). *Генуи Ортопедии.* 2019;25(4):610-21. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-4-610-621
14. Masadeh MM, Mhaidat NM, Alzoubi KH, Hussein EI, Al-Trad EI. In vitro determination on the antibiotic susceptibility of biofilm-forming Ps. aeruginosa and S. aureus: possible role of proteolytic activity and membrane lipopolysaccharide. *Infect Drug Resist.* 2013;6:27-32. Published online 2013 Mar 6. doi: 10.2147/IDR.S41501
15. Grant SS, Hung DT. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence.* 2013 May 15;4(4):273-83. doi: 10.4161/viru.23987

## REFERENCES

1. Sakovich NV, Andreev AA, Mikulich EV, Ostroshko AP, Zvyagin VG. Modern aspects of etiology, diagnostics and treatment of osteomyelitis. *Vestn Eksperim i Klin Khirurgii.* 2018;11(1):70-79. doi: <https://doi.org/10.18499/2070-478X-2018-11-1-70-79> (In Russ.)
2. Leonova SN, Rekhov AV, Kameka AL. Bacteriologic examination of wound exudate in patients with local and disseminated chronic osteomyelitis. *Acta Biomedica Scientifica (East Siberian Biomedical Journal).* 2016;1(4):91-94. <https://doi.org/10.12737/22975> (In Russ.)
3. Daher SR. The association analysis of microorganisms osteomyelitis of tubular bones. *Integrativnye Tendentsii v Meditsine i Obrazovanii.* 2016;(4):30-31. [https://www.elibrary.ru/title\\_about.asp?id=53604](https://www.elibrary.ru/title_about.asp?id=53604) (In Russ.)
4. Petukhov VI, Bulavkin VP, Okulich VK, Plotnikov FV. Ratsional'noe ispol'zovanie antibiotikov v lechenii posttravmaticheskogo osteomielita s uchetom dinamiki izmeneniia rezistentnosti. *Novosti Khirurgii.* 2012;20(1):71-79. [http://www.surgery.by/pdf/full\\_text/2012\\_1\\_13\\_ft.pdf](http://www.surgery.by/pdf/full_text/2012_1_13_ft.pdf) (In Russ.)

## Адрес для корреспонденции

640014, Российская Федерация,  
г. Курган, ул. Марии Ульяновой, д. 6,  
Национальный медицинский исследовательский

5. Shipitsyna IV, Osipova EV, Ovchinnikov EN, Leonchuk DS. Zavisimost' bioplenkoobrazuiushchei sposobnosti ot antibiotikochuvstvitel'nosti klinicheskikh shtammov Pseudomonas aeruginosa, vydelennykh u patsientov s khronicheskim osteomielitom. *Klin Lab Diagnostika.* 2020;65(1):37-41. <https://www.medlit.ru/journalsview/lab/view/journal/2020/issue-1/> (In Russ.)
6. Terekhova RP, Mitish VA, Paskhalova YuS, Skladan GE, Prudnikova SA, Blatun LA. Osteomyelitis agents of the long bones and their resistance. *Wounds and Wound Infections.* 2016;3(2):24-30. <https://doi.org/10.17650/2408-9613-2016-3-2-24-30> (In Russ.)
7. Gordinskaya NA, Sabirova EV, Abramova NV, Dudareva EV, Mitrofanov VN. Resistance of main pathogenic organisms in the department of purulent osteology. *Vopr Travmatologii i Ortopedii.* 2012;(1):14-17. <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=18231216> (In Russ.)
8. Fadeev SB. The dynamics of species structure of microflora of foci surgical soft tissue infection in the course of the disease. *Biul Orenburg Nauch Tsentra UrO RAN.* 2013;(3):4. <https://cyberleninka.ru/article/n/dinamika-vidovogo-sostava-mikroflory-ochagov-hirurgicheskoy-infektsii-myagkih-tkaney-v-techenie-zabolevaniya> (In Russ.)
9. Slatina NM, Plotkin LL, Belov VV. Microbiological and clinical significance of biofilm infections (review). *Ural Med Zhurn.* 2014;(4):106-12 <https://www.elibrary.ru/item.asp?id=22002684> (In Russ.)
10. Rybtke M, Hultqvist LD, Givskov M, Tolker-Nielsen T. Pseudomonas aeruginosa Biofilm Infections: Community Structure, Antimicrobial Tolerance and Immune Response. *J Mol Biol.* 2015 Nov 20;427(23):3628-45. doi: 10.1016/j.jmb.2015.08.016
11. van Vugt TA, Geurts J, Arts JJ. Clinical Application of Antimicrobial Bone Graft Substitute in Osteomyelitis Treatment: A Systematic Review of Different Bone Graft Substitutes Available in Clinical Treatment of Osteomyelitis. *Biomed Res Int.* 2016;2016:6984656. doi: 10.1155/2016/6984656
12. Chebotar IV, Lazareva AV, Masalov YaK, Mikhailovich VM, Mayanskiy NA. Acinetobacter: Microbiological, Pathogenetic and Resistant Properties. *Vestn RAMN.* 2014;69(9-10):39-50. doi: 10.15690/vramn.v69i9-10.1130 (In Russ.)
13. Mironov SP, Tsiskarashvili AV, Gorbatiuk DS. Chronic post-traumatic osteomyelitis as a problem of contemporary traumatology and orthopedics (literature review). *Genii Ortopedii.* 2019;25(4):610-21. doi: 10.18019/1028-4427-2019-25-4-610-621 (In Russ.)
14. Masadeh MM, Mhaidat NM, Alzoubi KH, Hussein EI, Al-Trad EI. In vitro determination on the antibiotic susceptibility of biofilm-forming Ps. aeruginosa and S. aureus: possible role of proteolytic activity and membrane lipopolysaccharide. *Infect Drug Resist.* 2013;6:27-32. Published online 2013 Mar 6. doi: 10.2147/IDR.S41501
15. Grant SS, Hung DT. Persistent bacterial infections, antibiotic tolerance, and the oxidative stress response. *Virulence.* 2013 May 15;4(4):273-83. doi: 10.4161/viru.23987

## Address for correspondence

640014, Russian Federation,  
Kurgan, M.Ulyanovoy Str., 6,  
National Ilizarov Scientific Center for Traumatology

центр травматологии и ортопедии  
имени академика Г.А. Илизарова Министерства  
здравоохранения Российской Федерации,  
научно-клиническая лаборатория  
микробиологии и иммунологии,  
тел. моб.: +7 909 179-26-01,  
e-mail: ivschimik@mail.ru,  
Шипицына Ирина Владимировна

and Orthopedics, Ministry of Health of Russia,  
Research Clinical Laboratory  
of Microbiology and Immunology  
tel.mob. +7 909 179-26-01,  
e-mail vschimik@mail.ru  
Shipitsyna Irina V.

#### Сведения об авторах

Шипицына Ирина Владимировна, к.б.н., научный  
сотрудник научно-клинической лаборатории микро-  
биологии и иммунологии, Национальный меди-  
цинский исследовательский центр травматологии и  
ортопедии имени академика Г.А. Илизарова Мини-  
стерства здравоохранения Российской Федерации,  
г. Курган, Российская Федерация.  
<http://orcid.org/0000-0003-2012-3115>  
Осипова Елена Владимировна, к.б.н., старший на-  
учный сотрудник научно-клинической лаборатории  
микробиологии и иммунологии, Национальный  
медицинский исследовательский центр травматоло-  
гии и ортопедии имени академика Г.А. Илизарова  
Министерства здравоохранения Российской Феде-  
рации, г. Курган, Российская Федерация.  
<http://orcid.org/0000-0003-2408-4352>

#### Информация о статье

*Поступила 26 февраля 2020 г.  
Принята в печать 1 марта 2021 г.  
Доступна на сайте 1 мая 2021 г.*

#### Information about the authors

Shipitsyna Irina V., PhD, Researcher of the Research  
Clinical Laboratory of Microbiology and Immunology,  
National Ilizarov Scientific Center for Traumatology and  
Orthopedics of the Ministry of Health of the Russian  
Federation, Kurgan, Russian Federation.  
<http://orcid.org/0000-0003-2012-3115>  
Osipova Elena V., PhD, Senior Researcher of the  
Research Clinical Laboratory of Microbiology and  
Immunology, National Ilizarov Scientific Center for  
Traumatology and Orthopedics of the Ministry of Health  
of the Russian Federation, Kurgan, Russian Federation.  
<http://orcid.org/0000-0003-2408-4352>

#### Article history

*Arrived: 26 February 2020  
Accepted for publication: 1 March 2021  
Available online: 1 May 2021*